

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第 号	氏 名	伊 藤 修 平
論文審査担当者 主 査 整形外科 中 村 雅 也 解剖学 仲 嶋 一 範 内科学 中 原 仁 生理学 柚 崎 通 介 学力確認担当者： 審査委員長：仲嶋 一範 試問日：平成31年 2月 7日			
(論文審査の要旨) 論文題名：LOTUS Inhibits Neuronal Apoptosis and Promotes Tract Regeneration in Contusive Spinal Cord Injury Model Mice (LOTUSはマウス脊髄圧挫損傷モデルにおいて神経細胞死を抑制し、軸索再生を促進する) 脊髄損傷後の軸索再生はNogo receptor-1 (NgR1) によって制限される。そこでNgR1への拮抗作用をもつLateral olfactory tract usher substance (LOTUS) を全神経細胞で過剰発現するマウス (Tg) を用いて胸髄圧挫傷後の回復過程について多角的に検討した。Tgマウスでは野性型 (Wt) マウスと比較して有意な運動機能回復促進を示した。組織学的には、遅発性細胞死の抑制、皮質脊髄路や網様体脊髄路の保護、縫線核脊髄路神経線維の再生を示唆する所見を認め、LOTUSは神経保護、軸索再生作用を有することが示唆された。 審査では、まず内在性LOTUSの発現部位、Tgマウスで神経特異的に発現させた理由、膜型・分泌型のどちらが効いているのかについて質問された。有効な抗体が無かったため本研究では検討しなかったが、先行研究では胎生期の <i>in situ hybridization</i> を行い、脳、脊髄、特に軸索やミエリンに豊富な局在を認めた。軸索伸長促進作用に焦点を当てるために神経細胞のみにLOTUSを発現させ、さらに膜型LOTUSが可溶性LOTUSを分泌するので、その両方が効いている可能性があるかと回答された。LOTUSが脱髄を抑制したとの考察に対して、マウスでは比較的早期に再髄鞘化が認められるため再髄鞘化も否定できないと指摘され、電子顕微鏡で検討したか問われた。過去の文献から再髄鞘化に約3ヶ月かかると考えていたが今後検討する必要があると回答された。LOTUSの保護作用に関して、抗炎症作用の可能性は検討したか問われた。本研究では未検討であり、免疫染色などによりLOTUSが抗アポトーシス、抗炎症のどちらの作用を有するのか判断する必要があると回答された。さらにLOTUS-Tgマウスの神経回路や電気生理の表現型について質問された。皮質脊髄路の順行性標識や5-hydroxytryptamine染色では神経線維数の差は認めず、痙攣など行動異常も認めなかったが、電気生理学的検討でLOTUS-TgマウスとWtマウスで運動誘発電位に有意差がないことも示すべきであったと回答された。また、Tgマウスでは神経系構築に変化が生じる可能性があり、また1系統のみの解析では外来遺伝子挿入部位の影響を否定することが困難であるため、成熟後に発現誘導をかけたり遺伝子導入等を行う必要があったのではと指摘された。Tgマウス提供元では、これまでに4系統を確認しており、そのうちの1系統の提供を受けて実験を行った。指摘の通りLOTUSが導入された部位の遺伝子機能を潰した可能性は否定できないので、LOTUSタンパク質投与で評価したかったが、技術的な問題でTgマウスを用いたと回答された。遺伝子導入については、レンチウイルスによる神経幹細胞への導入やAAVによる脊髄損傷部への直接導入は実現可能であると回答された。 以上、本研究には検討すべき課題は残るものの、LOTUS-Tgマウス圧挫損傷モデルを用いてLOTUSの運動機能回復への有用性を示し、順行性標識や経時的な染色評価を行って神経保護・軸索再生作用を示唆した点で有意義な研究であると評価された。			